种泥预处理和发酵温度对暗发酵产氢的影响研究进展*

杨侠 李茹莹**

（天津大学环境科学与工程学院 天津 300350）

摘要： 生物质暗发酵产氢不仅可以处理有机废物，同时可以获得清洁能源，实现了废物资源化利用。然而产氢种泥中大量耗氢菌的存在会导致暗发酵氢气产量低等问题，因此种泥预处理是暗发酵产氢的必需条件。随着暗发酵产氢基质的多样化，产氢种泥的预处理方法也不断发展。本文对近十年来产氢种泥预处理方法的发展进行了综述，并且结合发酵温度，讨论了种泥预处理方法和发酵温度两方面条件对暗发酵产氢的影响，并对该研究方向提出了展望，以期为后续暗发酵产氢的进一步研究提供参考。

关键词： 种泥预处理；发酵温度；暗发酵产氢

A Review on Effects of Seed Sludge Pretreatment and Fermentation Temperature on Dark Fermentative Hydrogen Production

YANG Xia, LI Ru-ying

(*School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300350, China*)

Abstract: Dark fermentative hydrogen production from the biomass resources can not only treat the organic wastes, but also recover the clean energy to achieve the resource utilization of wastes. However, there are a great amount of hydrogen consuming microorganisms in the seed sludge of dark fermentative hydrogen production system, which reduces the hydrogen yield obviously. Therefore, pretreatment of seed sludge is necessary to enrich hydrogen producing microorganisms for a hydrogen fermentation process. As the variation of substrates used for hydrogen fermentation, pretreatment methods of hydrogen producing seed sludge have also been developed continuously. The research development of hydrogen producing seed sludge pretreatment in the recent decade was reviewed, and the effects of seed sludge pretreatment methods and fermentation temperature on hydrogen fermentation were discussed. Outlook suggestions were also proposed for this study field to provide reference for further related study.

Key words: Seed sludge pretreatment; Fermentation temperature; Dark fermentative hydrogen production

* 水体污染控制与治理科技重大专项课题（2015ZX07306001）

** 通讯作者，电子邮箱：liruying@tju.edu.cn

随着化石能源的日渐枯竭，采用生物质资源（如废水、禽畜排泄物、城市垃圾等）厌氧发酵制取氢气是清洁能源生产和废物资源化利用的重要研究热点之一[1-5]。厌氧发酵产氢分为暗发酵和光发酵两种方法，相比于光发酵产氢，暗发酵无需外加光源、反应器结构简单，在产氢速率和氢气产率方面更具优势。暗发酵产氢的种泥来源十分丰富，农田土壤、城市污水处理厂的好氧污泥和消化污泥、市政排水管网下水道的底泥以及厌氧生物处理反应器中的污泥均可作为产氢种泥[6]。然而由于种泥中微生物种类繁多，产氢菌群丰富的同时，也存在大量的耗氢菌（主要是产甲烷菌、同型产乙酸菌），不可避免地降低了系统的产氢效率。

因此，在对暗发酵产氢反应器接种前通常对产氢种泥进行预处理，选择性地抑制甚至杀灭耗氢菌来富集产氢菌群，这对暗发酵产氢反应器的快速启动及高效运行至关重要。另外，发酵温度也是酶促反应的关键因素之一，是发酵产氢过程中重要的影响因子。对于提高产氢效果，适当提高发酵温度也是一种行之有效的方法，尤其是利用难水解基质进行产氢[7]。而种泥的预处理方法和后续发酵温度对产氢效率也存在协同影响。

本文针对暗发酵产氢种泥预处理方法的发展和发酵温度对产氢效率的影响两方面进行综述，讨论常用的种泥预处理方法及发酵温度对厌氧发酵产氢过程的影响，并对该领域今后的研究方向进行了展望。

1 种泥预处理方法对暗发酵产氢的影响

暗发酵产氢微生物主要有两种：梭菌属（*Clostridium*）和肠杆菌属（*Enterobacter*）。梭菌属为革兰氏阳性菌，专性厌氧，在极端条件下可产生孢子。肠杆菌属为革兰氏阴性菌，兼性厌氧。根据这两种产氢微生物的不同特性，常见的种泥预处理方法主要分为两大类：（1）利用梭菌属可产孢子的特性，采用极端条件杀灭耗氢菌，如热处理、酸或碱处理等；（2）利用肠杆菌属兼性厌氧的特性，采用一定强度的曝气处理，杀灭专性厌氧的耗氢菌，尤其是产甲烷菌；除此之外，还可以通过添加抑制剂来抑制耗氢菌活性，如 2-溴乙烷磺酸盐（BESA）、氯仿、碘丙烷等。抑制剂是产甲烷过程中辅酶-M 的类似物，能特异性地干扰产甲烷菌的代谢活动，从而抑制产甲烷菌的活性。

在暗发酵产氢研究的发展过程中，发酵基质由葡萄糖等简单基质变得越来越

复杂，预处理方法也越来越多元化，发酵产氢规模也逐渐由批式向小试、中试发展。表 1 至表 5 总结了各种基质条件下产氢种泥的最佳预处理条件及其产氢效率。

1.1 热处理

热处理是最为普遍的种泥预处理方法，尤其是在早期暗发酵产氢研究中，大部分报道采用热处理方法。表 1 总结了种泥热处理条件及其最佳的产氢效率。如表 1 所示，除蔗糖外，种泥热处理对于不同基质不同反应器类型的暗发酵产氢均起到促进作用。简单基质葡萄糖的氢气产率最高，在 160-400 mL/g-VS 之间，其次是餐厨类基质，氢气产率在 30-60 mL/g-VS 之间，产氢较差的是稻秆、木薯酒精等其他基质，氢气产率在 0.4-14 mL/g-VS 之间。种泥热处理条件包括温度和时间两个参数，Hu 等[8]以葡萄糖为基质，厌氧颗粒污泥和厌氧污泥为种泥，考察了热处理时间对厌氧发酵产氢的影响，研究表明 30 min 比 10 min 更有利于产氢。Baghchehsaraee 等[9]以葡萄糖为基质，厌氧消化污泥和活性污泥为种泥，考察了热处理温度对厌氧发酵产氢的影响，研究发现相比于 80°C、95°C，热处理温度为 65°C 时，氢气产率最高。而 Liu[14]以餐厨垃圾为基质，厌氧活性污泥为种泥，通过比较不同热处理温度和时间，发现 80°C，15 min 产氢效果最好。因此，对于不同来源的产氢种泥，产氢效果最佳的热处理温度和时间也有所不同。

1.2 酸碱处理

产氢种泥酸或碱处理，主要是利用产甲烷菌等耗氢菌对 pH 极其敏感的特性，通过调节种泥 pH 来杀灭耗氢菌，主要是产甲烷菌。表 2 和表 3 分别总结了酸和碱处理的最佳条件及相应的氢气产率。如表 2 所示，蔗糖为基质时，氢气产率最高，为 347 mL/g-VS，其次是葡萄糖，为 120-230 mL/g-VS，餐厨垃圾的氢气产率在 50-80 mL/g-VS 之间，而废水的氢气产率仅为 0.3 mL/g-VS。Liu[14]以餐厨垃圾为基质，厌氧活性污泥为种泥进行厌氧发酵产氢，通过比较不同酸处理 pH 值，发现 pH 值为 4 时，产氢效果最好。不同于种泥热处理，部分种泥进行酸处理后，产氢并未得到促进或者甚至受到抑制。Hu 等[8]以葡萄糖为基质，分别以厌氧颗粒污泥和厌氧污泥为种泥，将种泥酸处理（pH=3，24 h）后进行厌氧消化，结果显示，厌氧颗粒污泥产氢被完全抑制，而厌氧污泥的氢气产率下降了 20%。

种泥碱处理对厌氧发酵产氢的影响如表 3 所示。葡萄糖为基质时，氢气产率最高，为 200-230 mL/g-VS，其次是蔗糖，氢气产率为 150 mL/g-VS，产氢较差

的是餐厨类，氢气产率在 30-60 mL/g-VS 之间。整体来看，大部分种泥碱处理后对暗发酵产氢起到促进作用。Liu[14]以餐厨垃圾为基质，以厌氧活性污泥为种泥进行暗发酵产氢，比较不同碱处理 pH 对产氢的影响，发现 pH 值为 12 时氢气产率最高。另外，如表 3 所示，以葡萄糖（10 g/L）为基质，对厌氧消化污泥和好氧活性污泥进行碱处理（pH=12, 24 h），由于种泥来源和原始性质（如厌氧、好氧）不同，对产氢的促进程度也不同，碱处理对好氧活性污泥的促进作用更明显，其氢气产率是未处理的 4.3 倍。因此，对于酸和碱处理最佳的 pH 值及处理时间，需要进一步研究，且种泥来源对酸和碱处理的最佳处理条件和氢气产率具有明显的影响作用。

1.3 曝气处理

表 4 总结了种泥曝气处理条件及相应的氢气产率。整体来看，种泥曝气处理对于暗发酵产氢均无抑制作用，大部分起到促进作用。Wu 等[18]考察了连续曝气和重复曝气两种曝气形式对厌氧发酵产氢的影响，研究表明采用重复曝气预处理种泥时，氢气产率更高。如表 4 所示，以餐厨垃圾为发酵基质时，曝气时间过短对产氢没有促进作用，曝气处理 2 h 时的氢气产率显著低于处理 7 d 和 10 d 时的氢气产率。因此，曝气处理的形式及曝气时间需要综合考虑，以获得产氢活性较好的种泥。

1.4 抑制剂处理

表 5 总结了不同抑制剂处理种泥的条件及相应的氢气产率。抑制剂主要包括氯仿、BESA、碘丙烷等，主要针对产甲烷菌进行抑制。抑制剂的种类和添加量是影响产氢的主要因素。Li 等[12]以葡萄糖为基质，好氧活性污泥为种泥，采用不同种类的抑制剂对种泥进行预处理，结果发现氯仿对产氢有促进作用，而 BESA 对产氢有抑制作用。Hu 等[8]以葡萄糖为基质，分别以厌氧颗粒污泥和厌氧污泥为种泥，采用氯仿为抑制剂预处理种泥，结果表明两种种泥最佳的抑制剂添加量相差 5 倍。

1.5 种泥预处理方法对暗发酵类型及微生物群落的影响

暗发酵产氢效率与其发酵类型紧密相关，在厌氧发酵过程中，氢气的产生主要是通过四种代谢途径：乙酸途径、丁酸途径、乙醇途径、乙酸和丁酸混合途径。另外，暗发酵产氢的同时，还会存在不产生氢气甚至是消耗氢气的代谢反应，如

乳酸途径、丙酸途径、氢气转化成乙酸途径。

在以往的部分研究中，对种泥预处理后液相末端挥发酸种类及产氢发酵类型也做了相应研究。Baghchehsaraee 等[9]以葡萄糖为基质，厌氧消化污泥和活性污泥为种泥，种泥热处理后，通过分析挥发酸及产氢代谢类型，得出产氢最佳条件下的挥发酸产物为丁酸和乙酸，代谢类型为丁酸和乙酸混合型发酵。Ghimire 等[16]以西红柿和南瓜为基质，厌氧消化污泥为种泥，BESA 为抑制剂预处理种泥进行暗发酵产氢，研究表明产氢效率最大时产生的挥发酸主要是丁酸和乙酸，发酵类型同样为丁酸和乙酸混合型发酵。同样地，Bellucci 等[11]、Li 等[17]及 Wu 等[18]均得出相同的结论。针对丁酸和乙酸的比例对产氢效果的影响，Bellucci 等[11]通过对种泥进行酸、热和曝气处理，比较分析氢气产率与丁酸和乙酸比值的关系，研究表明预处理对丁酸和乙酸比值没有明显影响。而 Wu 等[18]研究发现不同种泥预处理条件下，丁酸和乙酸的比值不同。Ghimire 等[16]也得出类似结论，并且研究表明，丁酸和乙酸比值越大，氢气产率越高，这是由于乙酸积累越多，同型产乙酸菌活性越强，氢气消耗越多，导致产氢下降。而 Bellucci 等[11]得出相反结论，认为丁酸和乙酸比值越大，产氢越差，进一步微生物种类分析发现此过程并无同型产乙酸菌存在，而相比于丁酸型发酵，乙酸型发酵氢气转化效率更高。另外，Li 等[12]得出最佳产氢条件下的发酵类型为丁酸型发酵，而 Yuan 等[15]研究表明最佳产氢代谢类型为乙醇型发酵。因此，要综合考虑种泥中产氢微生物种类及代谢类型来考察最佳产氢条件。

种泥预处理对产氢微生物种类及种群结构具有重要影响，从而影响暗发酵产氢的效率。在以往的研究中，有部分研究者对暗发酵产氢微生物方面做了相关研究。Baghchehsaraee 等[9]研究了不同热处理温度与产氢效果之间的关系，通过生物相分析得出提高热处理温度，氢气产率下降，这是由于热处理温度的升高减少了种群多样性，不利于产氢。而 Bellucci 等[11]对种泥采取热、酸、曝气预处理后进行暗发酵产氢，发现种泥预处理对微生物种群多样性无明显影响，而是通过影响微生物菌群结构来影响产氢。另外，Lamaison 等[22]研究发现除了种泥预处理外，环境条件如 pH 等也会影响微生物的代谢途径，如梭菌属可以代谢生成丁醇、丙酮等。目前，种泥预处理对微生物的影响研究相对缺乏，但是在不同种泥预处理条件下，对产氢微生物菌群变化及优势菌群的研究，是考察种泥预处理对产氢

效果影响的关键。因此，建议在以后的相关研究中，对种泥来源、种泥微生物类别及预处理条件下种泥中微生物群落的分析做进一步的探究，以便针对性地考察某种菌群适宜的预处理方法，或者某种预处理方法对群落种类及结构的影响。

2 发酵温度对暗发酵产氢的影响

厌氧发酵产氢主要包括四种温度条件：低温（10-20°C）、中温（30-40°C）、高温（50-60°C）和超高温（≥80°C），目前大多采用中温条件。但是，有研究表明，提高发酵温度不仅可以增加基质在液相中的溶解度，利于其被微生物代谢分解[25]，而且可以提高种泥中微生物的酶活性，加快新陈代谢促进产氢，也有研究者认为，提高温度可以降低溶液中氢气溶解度[26]，使得氢气更易释放出来，增加产氢量。因此很多研究者采取不同的发酵温度进行发酵产氢，以考察发酵温度对产氢的影响，相关研究结果总结在表 6 中。

由表 6 可知，产氢的最佳发酵温度因基质和种泥种类而不同。例如，采用沉淀池污泥分别对餐厨垃圾、米饭和面条进行暗发酵产氢时，最佳发酵温度依次为 55°C、37°C 和 55°C；采用好氧脱水污泥和沉淀池污泥对餐厨垃圾进行暗发酵产氢，最佳发酵温度分别为 35°C 和 55°C。这是由于温度对种泥中微生物菌群的生长代谢有着重要作用，不同产氢微生物有各自适宜的温度条件，大部分产氢微生物属于嗜温性微生物，适宜温度为 37°C，但二沉池污泥的最佳产氢温度为 55°C [38]，堆肥污泥的最佳产氢温度为 60°C [39]。因此，研究不同基质发酵产氢的优势菌群及其适宜温度，以采取适当的发酵温度对于促进产氢有着重要意义。Sivagurunathan 等[36]以餐厨堆肥对饮料工业废水进行暗发酵产氢，研究表明最佳温度为 45°C，其优势菌属为梭菌属。据文献报道，中温下的产氢菌主要有梭菌属、肠杆菌属和芽孢杆菌属，高温、超高温下则主要是热厌氧杆菌、热纤维杆菌和芽孢杆菌属等[40]。Gao 等[41]研究发现，与中、高温相比，超高温发酵会降低种群多样性。

此外，一般认为，在厌氧发酵过程中，水解是限速步骤，提高发酵温度可以加快有机质水解。Cao 等[28]和 Arslan 等[29]在不同温度条件下发酵产氢，研究发现影响产氢的限速步骤并非水解，而是酸化，在不同发酵温度下，厌氧发酵系统中的 pH 不同，而暗发酵产氢适宜的 pH 为 5.5-6.0[42]，因此过低或过高的 pH 均对产氢有抑制作用。而且有文献报道同型产乙酸菌在低 pH 条件下活性大，会将

氢气转化为甲烷，从而降低氢气产率[43-44]。

因此，针对不同的产氢微生物，在其可承受的温度范围内，适当提高温度利于促进产氢，但一味地提高温度不仅会使得微生物菌群种类锐减，还会造成微生物酶失活甚至细胞死亡。另外，提高发酵温度意味着能耗加大，提高运行成本。因此，综合考虑产能和能耗两个方面，力求用最经济的方式获取最高的产氢效率。

3 种泥预处理和发酵温度对暗发酵产氢的影响

为了综合比较种泥预处理方法和发酵温度对厌氧发酵产氢的影响，也有研究者将二者联合起来进行了相关的试验研究。Luo 等[19]通过设置中温（37°C）、中温（37°C）+种泥热处理（90°C，60 min）、高温（60°C），对木薯酒糟进行暗发酵产氢，研究表明，种泥预处理对产氢无明显影响，而提高发酵温度抑制了同型产乙酸菌的活性，从而促进发酵产氢。刘新媛等[45]设置中温（37°C）+种泥热处理（100°C，30 min）、高温（55°C）+种泥热处理（100°C，30 min）、高温（55°C）+种泥曝气预处理，对餐厨垃圾与污泥的混合原料进行厌氧发酵产氢，发现无论是氢气产率还是对产甲烷菌的抑制作用，种泥曝气预处理后高温发酵是最佳的运行条件，进一步的生物分析表明，发酵温度对细菌菌群结构的影响高于种泥预处理方式，种泥的预处理方式对细菌菌群多样性的影响较大。

由于产氢微生物类别、基质种类、预处理条件的差异，已有研究结果有所差异。因此，还需从基质种类、种泥类别和预处理方法等方面做进一步系统的试验研究，以考察两者联合作用对厌氧发酵产氢的影响。

4 展望

由于已有的研究对厌氧发酵生物相的分析比较有限，因此在后续研究中，对接种泥中的产氢微生物种群类别、不同预处理条件下微生物群落的相应变化还需要做进一步系统研究。

由于产氢微生物有自身限制的温度范围，所以在之后的产氢试验研究中，可以进行高效产氢菌的筛选及接种，以促进氢气的产生。根据研究[46]发现，能够分离出来的产氢菌比如 S 菌株可以将乙醇转化成乙酸和氢气，沃尔夫互营杆单细胞菌能够将丁酸氧化分解为乙酸和氢气等。因此在后续的发酵产氢试验中，可进一步对高效产氢菌群进行筛选或者适当接种。

参考文献

[1] O-Thong S, Prasertsan P, Intrasungkha N, et al. Optimization of simultaneous thermophilic fermentative hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent by Thermoanaerobacterium-rich sludge. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33(4): 1221-1231.

[2] Gilroyed B H, Chang C, Chu A, et al. Effect of temperature on anaerobic fermentative hydrogen gas production from feedlot cattle manure using mixed microflora. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33(16): 4301-4308.

[3] Ren N Q, Li Y F, Li J Z, et al. Progress of fermentative biohydrogen production process in China. Journal of Chemical Industry and Engineering, 2004, 55: 7-13.

[4] Chong M L, Sabaratnam V, Shirai Y, et al. Biohydrogen production from biomass and industrial wastes by dark fermentation. International Journal of Hydrogen Energy, 2009, 34(8): 3277-3287.

[5] 雷国元，王丹鸳，王建龙. 有机固体废物生物法制氢的研究进展. 化工环保，2007，27(6)：525-531.
Lei G Y, Wang D Y, Wang J L. Research progresses in hydrogen bioproduction from organic solid wastes. Environmental Protection of Chemical Industry, 2007, 27 (6): 525-531.

[6] 郭婉茜，任南琪，王相晶，等. 接种污泥预处理对生物制氢反应器启动的影响. 化工学报，2008，59(5)：1283-1287.
Guo W Q, Ren N Q, Wang X J, et al. Comparative study of influence of inoculating sludge with different pre-treatments on start-up process in EGSB bio-hydrogen producing reactor. Environmental Protection of Chemical Industry, 2008, 59(5): 1283-1287.

[7] de Vrije T, Bakker R R, Budde M A, et al. Efficient hydrogen production from the lignocellulosic energy crop Miscanthus by the extreme thermophilic bacteria *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and *Thermotoga neapolitana*. Biotechnology for Biofuels, 2009, 2(1): 12.

[8] Hu B, Chen S L. Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation. International Journal of Hydrogen Energy, 2007, 32(15): 3266-3273.

[9] Baghchehsaraee B, Nakhla, G, Karamaney, et al. The effect of heat pretreatment temperature on fermentative hydrogen production using mixed cultures. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33(15): 4064-4073.

[10] Wang J L, Wan W. Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing cultures from digested sludge. International Journal of Hydrogen Energy 2008, 33(12): 2934-2941.

[11] Bellucci M, Botticella G, Francavilla M, et al. Inoculum pre-treatment affects the fermentative activity of hydrogen-producing communities in the presence of 5-hydroxymethylfurfural. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(1): 493-504.

[12] 李建政，昌盛，刘枫. 不同预处理方法对剩余污泥厌氧发酵产氢的影响. 哈尔滨工业大学学报，2011，43(6)：45-50.
Li J Z, Chang S, Liu F. Effect of different pretreatment methods on fermentative hydrogen production of excess sludge. Journal of Harbin Institute of Technology, 2011, 43(6): 45-50.

[13] Zhu H G, Béland M. Evaluation of alternative methods of preparing hydrogen producing seeds from digested wastewater sludge. International Journal of Hydrogen Energy, 2006, 31(14): 1980-1988.

[14] 刘海馨. 餐饮废物厌氧生化处理产氢要素影响研究. 沈阳：东北大学，2014.
Li H X. Anaerobic biochemical treatment and hydrogen production factors of waste food. Shenyang: Northeastern University, 2014.

[15] 袁玲莉，孙岩斌，文雪，等. 不同预处理对餐厨垃圾厌氧联产氢气和甲烷的影响. 中国沼气，2015，33(2)：13-18.

Yuan L L, Sun Y B, Wen X, et al. Effect of different pretretment on fermentative hydrogen and methane cogeneroation from food waste. China Biogas, 2015, 33(2): 13-18.

[16] Ghimire A, Frunzo L, Pontoniab L, et al. Dark fermentation of complex waste biomass for biohydrogen production by pretreated thermophilic anaerobic digestate. Journal of Environmental Management, 2015, 152: 43.

[17] Li D. Evaluation of pretreatment methods on harvesting hydrogen producing seeds from anaerobic digested organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). International Journal of Hydrogen Energy, 2010, 35(15): 8234-8240.

[18] 吴云奇，李茹莹. 污泥与餐厨垃圾发酵产氢种泥预处理方法比较. 中国生物工程杂志，2015，35(12)：78-83.

Wu Y Q, Li R Y. Comparison of seed sludge pretreatment method for hydrogen production from Sewage Sludge and food waste. China Biotechnology, 2015, 35(12): 78-83.

[19] Luo G, Xie L, Zou Z H, et al. Anaerobic treatment of cassava stillage for hydrogen and methane production in continuously stirred tank reactor (CSTR) under high organic loading rate (OLR). International Journal of Hydrogen Energy, 2010, 35(21): 11733-11737.

[20] Alemahdi N, Man H C, Rahman N A, et al. Enhanced mesophilic bio-hydrogen production of raw rice straw and activated sewage sludge by co-digestion. International Journal of Hydrogen Energy, 2015, 40(46): 16033-16044.

[21] Venkata M S, Lalit B V, Sarma P N. Effect of various pretreatment methods on anaerobic mixed microflora to enhance biohydrogen production utilizing dairy wastewater as substrate. Bioresource Technology, 2008, 99(1): 59-67.

[22] Lamaison F D C, Andrade P A M D, Bigaton A D, et al. Long-term effect of acid and heat pretreatment of sludge from a sugarcane vinasse treatment plant on the microbial community and on thermophilic biohydrogen production. International Journal of Hydrogen Energy, 2015, 40(41): 14124-14133.

[23] 刘敏，周湘杰，周筝，等. 种泥预处理对培养产氢颗粒污泥的影响. 四川大学学报（工程科学版），2013，45(4): 171-175.

Liu M, Zhou X J, Zhou Z, et al. Effects of heat preconditioning in cultured hydrogen-producing granular sludge. Journal of Sichuan University (Engineering Science Edition), 2013, 45(4): 171-175.

[24] Carrilloreyes J, Celis L B, Alatristemondragón F, et al. Decreasing methane production in hydrogenogenic UASB reactors fed with cheese whey. Biomass and Bioenergy, 2014, 63(2): 101-108.

[25] Immanue G, Dhanusha R, Prema P, et al. Effect of different growth parameters on endoglucanase enzyme activity by bacteria isolated from coir retting effluents of estuarine environment. International Journal of Environmental Science and Technology, 2006, 3(1): 25-34.

[26] Youn J H, Shin H S. Comparative performance between temperature-phased and conventional mesophilic two-phased processes in terms of anaerobically produced bioenergy from food waste. Waste Management and Research, 2005, 23(1): 32-38.

[27] 张全国，赫倚风，胡建军，等. 产气肠杆菌厌氧发酵产氢工艺实验. 农业机械学报. 2014, 45(2)：176-181.

Zhang Q G, He Y F, Hu J J, et al. Bio-hydrogen production by anaerobic fermention of *Enterbacter aerogenes* in pure culture. Transactions of the Chinese Society of Agriculture, 2014, 45(2): 176-181.

[28] 曹先艳，袁玉玉，赵由才，等. 温度对餐厨垃圾厌氧发酵产氢的影响. 同济大学学报，2008，36(7)：942-945.

Cao X Y, Yuan Y Y, Zhao Y C, et al. Temperature effect on bio-hydrogen production from Kitchen Waste. Journal of Tongji University, 2008, 36(7): 942-945.

[29] Arslan C, Sattar A, J C, et al. Optimizing the impact of temperature on bio-hydrogen production from food

waste and its derivatives under no pH control using statistical modelling. Biogeosciences, 2015, 12(21): 6503-6514.

[30] 金大为，孙庆业，石先阳. 啤酒废水的厌氧发酵产氢. 生物学杂志，2010，27(2)：29-32.
Jin D W, Sun Q Y, Shi X Y. Hydrogen production from brewery wastewater by anaerobic fermentation. Journal of Biology, 2010, 27(2): 29-32.

[31] 邹中海，罗刚，谢丽，等. 木薯酒精废水高温厌氧发酵产氢研究. 环境污染与防治，2009，31(7)：39-43.
Zou Z H, Luo G, Xie L, et al. Studies on hydrogen production from thermophilic anaerobic fermentative of cassava ethanol wastewater. Environmental Pollution and Control, 2009, 31(7): 39-43.

[32] 马海乐，刘瑞光，王振斌，等. 醋糟厌氧发酵制氢的影响因素研究. 农产品加工， 2009，(10)：26-29.
Ma H L, Liu R G, Wang Z B, et al. Research on influence factors of hydrogen production from vinegar residue by anaerobic digestion. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2009, (10): 26-29.

[33] 马晓珂，王振斌，陈克平，等. 苹果渣液态厌氧发酵制备生物氢气的研究. 食品与机械，2011，27(6)：237-240.
Ma X K, Wang Z B, Chen K P, et al. Biohydrogen production from apple residue by liquid-state anaerobic fermentation. Food and Machinery, 2011, 27(6): 237-240.

[34] Zhong J M, Stevens D K, Hansen C L. Optimization of anaerobic hydrogen and methane production from dairy processing waste using a two-stage digestion in induced bed reactors (IBR). International Journal of Hydrogen Energy, 2015, 40(45): 15470-15476.

[35] Sattar A, Arslan C, Ji C Y, et al. Comparing the bio-hydrogen production potential of pretreated rice straw co-digested with seeded sludge using an anaerobic bioreactor under mesophilic thermophilic conditions. Energies, 2016, 9(3): 1-14.

[36] Sivagurunathan P, Sen B, Lin C Y. Overcoming propionic acid inhibition of hydrogen fermentation by temperature shift strategy. International Journal of Hydrogen Energy, 2014, 39(33): 19232-19241.

[37] Gadow S I, Jiang H Y, Watanabe R, et al. Effect of temperature and temperature shock on the stability of continuous cellulosic-hydrogen fermentation. Bioresource Technology, 2013, 142(142C): 304-311.

[38] Yu H Q, Zhu Z H, Hu W R, et al. Hydrogen production from rice winery wastewater in a upflow anaerobic reactor by using mixed anaerobic cultures. International Journal of Hydrogen Energy, 2002, 27(11-12): 1359-1365.

[39] Ueno Y, Otsuka S, Morinoto M. Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemostat culture. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1996, 82(2): 194-197.

[40] Lee D J, Show K Y, Su A. Dark fermentation on biohydrogen production: Pure culture. Bioresource Technology, 2011, 102(18): 8393-8402.

[41] Gao W J, Leung K T, Qin W S, et al. Effects of temperature and temperature shock on the performance and microbial community structure of a submerged anaerobic membrane bioreactor. Bioresource Technology, 2011, 102(19): 8733-8740.

[42] Lin C Y, Lay C H, Sen B, et al. Fermentative hydrogen production from wastewaters: a review and prognosis. International Journal of Hydrogen Energy, 2012, 37(20): 15632-15642.

[43] Ramos C, Buitrón G, Moreno-Andrade I, et al. Effect of the initial total solids concentration and initial pH on the bio-hydrogen production from cafeteria food waste. International Journal of Hydrogen Energy, 2012, 37(18): 13288-13295.

[44] Schielbengelsdorf B, Dürre P. Pathway engineering and synthetic biology using acetogens. Febs Letters, 2012, 586(15): 2191-2198.

[45] 刘新媛. 污泥和餐厨废物两相双温发酵产氢产甲烷研究. 天津：天津大学，2014.
Liu X Y. Hydrogen and methane production from co-digestion of sludge and food waste in a

temperature-separated two-stage anaerobic fermentation process. Tianjin: Tianjin University, 2014.
[46] 朱建良，何世颖. 活性污泥降解有机物制氢技术. 化学纵横，2003，17(4)：5-8.
Zhu J L, He S Y. Hydrogen gas bio-production technology by sludge from carbohydrate. Chemical Industry Times, 2003, 17(4): 5-8.

表 1 种泥热处理对暗发酵产氢的影响

Table 1 Effects of heat treatment of seed sludge on dark fermentative hydrogen production

序号	基质	种泥	反应器类型	最佳条件	氢气产率	对产氢作用	参考文献
1	葡萄糖 18.75 g/L	厌氧颗粒污泥	批式（35°C, 23 mL）	100°C, 30 min	160.0 mL/g-VS	促进 未处理的 300 倍	[8]
		厌氧污泥	批式（35°C, 23 mL）	100°C, 30 min	177.7 mL/g-VS	促进 未处理的 1.11 倍	
2	葡萄糖 10 g/L	厌氧消化污泥	批式（37°C, 120 mL）	65°C, 30 min	408.8 mL/g-VS	促进 未处理的 5.35 倍	[9]
		活性污泥	批式（37°C, 120 mL）	65°C, 30 min	284.4 mL/g-VS	促进 未处理的 6.15 倍	
3	葡萄糖 10 g/L	厌氧消化污泥	批式（35°C, 100 mL）	100°C, 15 min	320.0 mL/g-VS	促进 未处理的 4.50 倍	[10]
4	葡萄糖 5 g/L	厌氧消化污泥	批式（37°C, 100 mL）	90°C 15 min	248.8 mL/g-VS	促进 未处理的 1.17 倍	[11]
5	葡萄糖 10 g/L	好氧活性污泥	批式（35°C, 100 mL）	100°C, 30 min	160.0 mL/g-VS	促进 未处理的 3.00 倍	[12]
6	蔗糖 10 g/L	厌氧消化污泥	批式（35°C, 40 mL）	100°C, 20 min	291.0 mL/g-VS	抑制 未处理的 0.50 倍	[13]
7	餐厨 21.1 g-VS/L	厌氧活性污泥	批式（35°C, 200 mL）	80°C, 15 min	61.6 mL/g-VS	—	[14]
8	餐厨 25 g-VS/L	沼渣	批式（35°C, 200 mL）	70°C, 30 min	10.8 mL/g-VS	促进 未处理的 10.80 倍	[15]
9	西红柿与南瓜 5.25 g-VS/L	厌氧消化污泥	批式（35°C, 600 mL）	105°C, 240 min	44.9 mL/g-VS	—	[16]
10	米饭与生菜 20 g-VS/L	厌氧消化污泥	批式（37°C, 400 mL）	100°C, 30 min	119.7 mL/g-VS	促进 未处理的 5.20 倍	[17]
11	餐厨与剩余污泥 43.5 g-VS/L	厌氧消化污泥	批式（55°C, 150 mL）	100°C, 30 min	26.8 mL/g-VS	促进 未处理的 1.29 倍	[18]
12	木薯酒糟 28 g/L	厌氧活性污泥	批式（37°C, 200 mL）	90°C, 60 min	13.8 mL/g-VS	无明显作用	[19]
13	稻秆	活性污泥	批式（35°C, 120 mL）	100°C, 60 min	14.22 mL/g-VS	促进 未处理的 1.98 倍	[20]
14	乳液废水 1.05 g/L	厌氧活性污泥	批式（29°C, 200 mL）	100°C, 60 min	0.4 mL/g-VS	促进 未处理的 6.67 倍	[21]
15	葡萄糖 5 g/L	厌氧活性污泥	厌氧序批式反应器（55°C, 450 mL）	80°C, 15 min	0.2 L/L.d	促进 未处理的 5.00 倍	[22]
16	人工废水 2.8 g-VS/L	浓缩污泥	上流式厌氧污泥床（37°C, HRT=3 h, OLR=133 g-COD/L.d）	100°C, 50 min	13.0 L/L.d	促进 未处理的 1.86 倍	[23]
17	干酪乳清 17.6 g-VS/L	厌氧颗粒污泥	上流式厌氧污泥床（35°C, HRT=8 h, OLR=48 g-COD/L.d）	100°C, 60 min	1.7 L/L.d	促进 未处理的 1.79 倍	[24]

表 2 种泥酸处理对暗发酵产氢的影响

Table 2 Effects of acid treatment of seed sludge on dark fermentative hydrogen production

序号	基质	种泥	反应器类型	最佳条件	氢气产率	对产氢作用	参考文献
1	葡萄糖 18.75 g/L	厌氧颗粒污泥	批式（35°C, 23 mL）	pH=3, 24 h	0	抑制 未产气	[8]
		厌氧污泥	批式（35°C, 23 mL）	pH=3, 24 h	124.4 mL/g-VS	抑制 未处理的 0.8 倍	
2	葡萄糖 10 g/L	厌氧消化污泥	批式（35°C, 100 mL）	pH=3, 24 h	142.2 mL/g-VS	促进 未处理的 2.0 倍	[10]
3	葡萄糖 5 g/L	厌氧消化污泥	批式（37°C, 100 mL）	pH=3, 24 h	213.3 mL/g-VS	无明显作用	[11]
4	葡萄糖 10 g/L	好氧活性污泥	批式（35°C, 100 mL）	pH=3, 24 h	231.1 mL/g-VS	促进 未处理的 5.0 倍	[12]
5	蔗糖 10 g/L	厌氧消化污泥	批式（35°C, 40 mL）	pH=3, 0.5 h	347.0 mL/g-VS	抑制 未处理的 0.6 倍	[13]
6	餐厨 21.1 g-VS/L	厌氧活性污泥	批式（35°C, 200 mL）	pH=4, 1/3 h	53.1 mL/g-VS	—	[14]
7	米饭与生菜 20 g-VS/L	厌氧消化污泥	批式（37°C, 400 mL）	pH=3, 6 h	0	抑制 未产气	[17]
8	餐厨与剩余污泥 43.5 g-VS/L	厌氧消化污泥	批式（55°C, 150 mL）	pH=2, 24 h	81.3 mL/g-VS	促进 未处理的 3.9 倍	[18]
9	乳液废水 1.05 g/L	厌氧活性污泥	批式（29°C, 200 mL）	pH=3, 24 h	0.3 mL/g-VS	促进 未处理的 5.0 倍	[21]
10	葡萄糖 5 g/L	厌氧活性污泥	厌氧序批式反应器（55°C, 450 mL）	pH=3, 24 h	0.2 L/L.d	促进 未处理的 4.4 倍	[22]

表 3 种泥碱处理对暗发酵产氢的影响

Table 3 Effects of base treatment of seed sludge on dark fermentative hydrogen production

序号	基质	种泥	反应器类型	最佳条件	氢气产率（mL/g-VS）	对产氢作用	参考文献
1	葡萄糖 10 g/L	厌氧消化污泥	批式（35°C, 100 mL）	pH=10, 24 h	195.5	促进 未处理的 2.8 倍	[10]
2	葡萄糖 10 g/L	好氧活性污泥	批式（35°C, 100 mL）	pH=10, 24 h	231.1	促进 未处理的 4.3 倍	[12]
3	蔗糖 10 g/L	厌氧消化污泥	批式（35°C, 40 mL）	pH=10, 0.5 h	156.7	抑制 未处理的 0.3 倍	[13]
4	餐厨 21.1 g-VS/L	厌氧活性污泥	批式（35°C, 200 mL）	pH=12, 1/3 h	62.3	—	[14]
5	餐厨与剩余污泥 43.5 g-VS/L	厌氧消化污泥	批式（55°C, 150 mL）	pH=12, 24 h	30.0	促进 未处理的 1.4 倍	[18]

表 4 种泥曝气预处理对暗发酵产氢的影响

Table 4 Effects of aeration treatment of seed sludge on dark fermentative hydrogen production

序号	基质	种泥	反应器类型	处理条件	氢气产率（mL/g-VS）	对产氢作用	参考文献
1	葡萄糖 10 g/L	厌氧消化污泥	批式（35°C, 100 mL）	24 h	160.0	促进 未处理的 2.3 倍	[10]
2	葡萄糖 5 g/L	厌氧消化污泥	批式（37°C, 100 mL）	24 h	266.6	促进 未处理的 1.3 倍	[11]
3	葡萄糖 10 g/L	好氧活性污泥	批式（35°C, 100 mL）	24 h	106.6	促进 未处理的 2.0 倍	[12]
4	蔗糖 10 g/L	厌氧消化污泥	批式（35°C, 40 mL）	0.5 h	537.3	无明显作用	[13]
5	米饭与生菜 20 g-VS/L	厌氧消化污泥	批式（37°C, 400 mL）	2 h	22.6	无明显作用	[17]
6	西红柿与南瓜 5.25 g-VS/L	厌氧消化污泥	批式（35°C, 600 mL）	10 d	82.4	—	[16]
7	餐厨与剩余污泥 43.5 g-VS/L	厌氧消化污泥	批式（55°C, 150 mL）	连续 7 d	75.4	促进 未处理的 3.6 倍	[18]
			批式（55°C, 150 mL）	重复 3 h，静沉 21 h	86.9	促进 未处理的 4.2 倍	

表 5 耗氢菌抑制剂对暗发酵产氢的影响

Table 5　Effects of inhibitors on dark fermentative hydrogen production

序号	基质	种泥	处理条件		反应器类型	最佳条件	氢气产率（mL/g-VS）	对产氢作用	参考文献
			抑制剂	含量与时间					
1	葡萄糖 18.75 g/L	厌氧颗粒污泥	氯仿	5%, 2.5%, 1%, 0.5%, 0.25%, 0.1%	批式（35°C, 23 mL）	0.5%	177.7	促进 未处理的 333.0 倍	[8]
		厌氧污泥	氯仿	5%, 2.5%, 1%, 0.5%, 0.25%, 0.1%	批式（35°C, 23 mL）	0.1%	195.5	促进 未处理的 1.2 倍	
2	葡萄糖 10 g/L	厌氧消化污泥	氯仿	2%, 24 h	批式（35°C, 100 mL）	2%, 24 h	124.4	促进 未处理的 1.8 倍	[10]
3	葡萄糖 10 g/L	好氧活性污泥	氯仿	0.1%, 24 h	批式（35°C, 100 mL）	0.1%, 24 h	88.9	促进 未处理的 1.7 倍	[12]
			BESA	10 mM, 24 h	批式（35°C, 100 mL）	10 mM, 24 h	35.5	抑制 未处理的 0.7 倍	
4	蔗糖 10 g/L	厌氧消化污泥	BESA	10 mM, 30 min	批式（35°C, 40 mL）	10 mM, 30 min	593.2	无明显作用	[13]
			碘丙烷	10 mM, 30 min	批式（35°C, 40 mL）	10 mM, 30 min	626.8	无明显作用	
5	西红柿与南瓜 5.25 g-VS/L	厌氧消化污泥	BESA	25 mM, 24 h	批式（35°C, 600 mL）	25 mM, 24 h	171.1	—	[16]
6	餐厨与剩余污泥 43.5 g-VS/L	厌氧消化污泥	BESA	10 mM, 24 h	批式（55°C, 150 mL）	10 mM, 24 h	51.9	促进 未处理的 2.5 倍	[18]
7	乳液废水 1.05 g/L	厌氧活性污泥	BESA	1 mM, 24 h	批式（29°C, 200 mL）	1 mM, 24 h	1.1	促进 未处理的 18.3 倍	[21]

表 6 发酵温度对暗发酵产氢的影响

Table 6　Effects of fermentation temperature on dark fermentative hydrogen production

序号	基质	种泥	反应器类型	发酵温度	最佳温度	氢气产率	参考文献
1	葡萄糖	产气肠杆菌	批式（150 mL）	25°C, 30°C, 35°C, 38°C	35°C	348.0 mL/g-VS	[27]
2	餐厨	好氧脱水污泥	批式	25°C, 35°C, 50°C	35°C	63.5 mL/g-VS	[28]
	餐厨				55°C	21.57 mL/g-VS	
3	米饭	沉淀池污泥	批式（400 mL）	37°C, 55°C	37°C	32.76 mL/g-VS	[29]
	面条				55°C	22.89 mL/g-VS	
5	啤酒废水	厌氧活性污泥	批式	25°C, 35°C, 45°C	35°C	237.6 mL/g-VS	[30]
6	木薯酒精废水	厌氧颗粒污泥	批式（200 mL）	37°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80°C	60°C	70.0 mL/g-VS	[31]
7	木薯酒糟	厌氧活性污泥	批式（200 mL）	37°C, 60°C	60°C	69.6 mL/g-VS	[19]
8	醋糟	牛粪	批式（200 mL）	25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C	35°C	37.0 mL/g-VS	[32]
9	苹果渣	活性污泥	批式（400 mL）	20°C, 35°C, 50°C	50°C	17.5 mL/g-VS	[33]
10	乳品加工废料	厌氧活性污泥	诱导床反应器（60 L）	40°C, 60°C	60°C	72.3 mL/g-VS	[34]
11	稻秆	沉淀池污泥	完全混合厌氧反应器（20 L）	37°C, 55°C	55°C	15.3 mL/g-VS	[35]
12	饮料工业废水	餐厨堆肥	完全混合厌氧反应器（2 L）	37°C, 45°C	45°C	13.6 L/L.d	[36]
13	纤维素	厌氧消化污泥	完全混合厌氧反应器（6 L）	37°C, 55°C, 80°C	55°C	295.2 mL/g-纤维素	[37]